



遺伝子発現プロファイルを用いた化合物スクリーニングのアルゴリズム開発研究

著者	牛嶋 大
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	11301甲第15623号
URL	http://hdl.handle.net/10097/58473

学 位 論 文 要 約

博士論文題目遺伝子発現プロファイルを用いた化合物スクリーニングのアルゴリズム開発研究.....

.....東北大学大学院医学系研究科 医科学専攻

.....がん生命科学講座 がん分子標的探索分野

氏名牛嶋 大.....

米国 Broad Institute で開発された Connectivity map (C-map) は、1309 の低分子化合物を 5 種類のヒトがん細胞株に作用させた遺伝子発現データベースとオンラインの解析ツールから構成され、ユーザーが発現上昇遺伝子群 (up)、発現下降遺伝子群 (down) の 2 つの遺伝子リストを入力すると、データベース内の各化合物による遺伝子発現量の変化に対してパターンマッチングが行われ、各化合物の類似度をスコア化してランキングで表示される。研究者が実験に使った化合物による発現変動とデータベース内の化合物による発現変動の類似度が高ければ、遺伝子発現変動と関連する作用機序が似ているということであり、実験に使った化合物に内在する作用ターゲットを類推することができる。このように C-map は化合物の *in silico* スクリーニングツールとして利用することができる。近年数多く開発されている分子標的薬は、通常ある特定の分子機構を標的とするが、複数のキナーゼを標的とする薬剤もある。また、新規の標的として別の活性があることがわかれば、新たな抗がん剤開発や適用拡大に役立つ。したがって、調べたい化合物に複数の作用機序がある場合に、これらを感度良く検出できるようスコアリング法の改良が必要である。さらに、例えば転写因子を阻害する化合物を作用させる実験や特定の遺伝子の発現を抑制する実験の場合には、遺伝子発現の低下と上昇では要因が異なると考えられるため、発現が上昇した遺伝子、あるいは低下した遺伝子それぞれ別々に強い相関がある場合にも対応する必要がある。

本研究では、C-map プログラムへの入力に使用する遺伝子リストのうち発現上昇群 (up) または下降群 (down) のいずれか、さらにその一部でも化合物による遺伝子発現変動と強い関連があればその化合物に対して高いスコアを与える方法として、pCS (partial connectivity scoring)法というアルゴリズムを開発した。そして pCS 法の性能を評価するため、ある遺伝子発現シグネチャが複数の化合物の作用を受けている状況を想定し、設定した化合物の検出精度に関してシミュレーション解析を行なった。具体的には、C-map データベース内の K 種類の無作為抽出した化合物について発現変動の大きい遺伝子を混合させてシグネチャを構成し、pCS 法および C-map で解析を行い、混合した K 個の化合物が上位 20 位以内にランクされた頻度に基づき性能を評価した。その結果、上位 20 位以内に入った頻度が pCS 法と C-map とで大きな差が認められた ($p < 0.0001$)。

大腸がん細胞株 HT-29 に対して 35 の抗がん剤を作用させ、抗がん剤によって発現変動した遺伝子群に対して C-map および pCS 法で解析を行った。プロテアソーム阻害剤 MG-132 および bortezomib は NF- κ B を抑制する作用が報告されている抗がん剤である。これらによる発現変動遺伝子を入力シグネチャとして解析すると、C-map ではこれらと同じ作用機序を持つ化合物が検出された。それに対して pCS 法ではこれらに加えて parthenolide という NF- κ B 阻害剤が上位にランクした。また、小胞体ストレス誘導剤で発現変動した遺伝子を用いて解析したところ、pCS 法では小胞体ストレス誘導剤に加えて Heat Shock Protein 90 を阻害する化合物を得ることができた。このように pCS 法を用いることにより、複数の作用機序の判明している既存化合物について、C-map よりも多様な作用機序を示す化合物を検出することができた。

臨床データを用いた解析では多発性骨髄腫患者における bortezomib の有効性に関連する化合物として trichostatin A が抽出され、細胞株を用いた実験において trichostatin A の作用による遺伝子発現の亢進が bortezomib の増殖阻害効果に関連することが示された。

このように本研究で開発した pCS 法は複数の作用機序を検索するのに有用であると考えられ、創薬における新たな分子標的の探索に役立つものとして期待される。